



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

BIOCONTROLE DE NEMATOIDE-DE-GALHAS EM BANANEIRA POR BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS

Autores: MARCELLY THAÍS DE CASTRO, GLEIKA LARISSA OLIVEIRA DORASIO DE SOUZA, RENATO MARTINS ALVES, REGINA CÁSSIA FERREIRA RIBEIRO, SILVIA NIETSCHKE, ADELICA APARECIDA XAVIER, JOSÉ AUGUSTO DOS SANTOS NETO

Introdução

A bananeira (*Musa spp.*), é uma cultura de grande importância econômica, principalmente para a região do Norte de Minas Gerais que tem investido bastante na área da bananicultura, porém, os problemas fitossanitários causados por *Meloidogyne javanica* têm afetado constantemente a eficiência de produção. Segundo Ferraz (2001), a busca por métodos eficazes e ambientalmente seguros para fazer o manejo de nematoides, é cada vez mais frequente, esses métodos tem o objetivo de explorar o potencial de inimigos naturais dos nematoides nos programas de controle biológico.

Sabe-se que bactérias endofíticas frequentemente são usadas como bioinoculantes para controlar diversas espécies de nematoides. Segundo Oostendorp; Sikora (1989), menos de 10% dos isolados bacterianos obtidos apresentam biocontrole de fitonematoides, levando a busca de isolados variados para fazer uma seleção massal. Este trabalho teve como objetivos testar e selecionar isolados endofíticos promissores para o controle de *Meloidogyne javanica* em bananeira.

Material e métodos

A. Origem das bactérias

Utilizaram-se 20 isolados de bactérias endofíticas procedentes de bananeiras “Prata- Anã” do Norte de Minas e Sudoeste da Bahia.

B. Montagem do ensaio

O experimento foi realizado em casa de vegetação, usando o delineamento inteiramente casualizado, com 8 repetições + 1 testemunha contendo apenas o nematoide. Utilizaram-se mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’ produzidas no Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Ciências Agrárias completamente enraizadas, com três folhas lançadas e no mínimo três centímetros de altura que foram transferidas para bandejas contendo o substrato Bioplant® onde permaneceram por 30 dias em viveiro com irrigação controlada e sombrite. Durante a aclimatização, as mudas foram tratadas via rega do substrato dos tubetes com 2ml de suspensão bacteriana calibrada para OD₅₄₀=1,0 aos 15 e 30 dias após o plantio. Após a fase de aclimatização (40 dias aproximadamente) foram transplantadas para vasos plásticos de 3L contendo solo arenoso previamente autoclavado. Após 7 dias foi realizada a inoculação de 3 mL contendo 2000 ovos em três orifícios ao redor da muda.

C. Avaliação do experimento

Aos 90 dias após a inoculação do nematoide, foram avaliadas as características agrônomicas: altura das plantas, o diâmetro do pseudocaule e o número de folhas. Em seguida, a parte aérea foi cortada, acondicionada em sacos de papel e o sistema radicular removido cuidadosamente do solo e levados ao laboratório de Fitopatologia. No laboratório realizou-se a secagem da parte aérea das amostras para avaliar a massa seca e a lavagem das raízes em água. A seguir, massas de ovos dos nematoides nos sistemas radiculares foram coradas com floxina B. Após a coloração, as raízes foram deixadas sobre duas folhas de jornal por 10 minutos para secagem. Posteriormente realizou-se a avaliação do peso do sistema radicular das plantas, seguida da contagem de massas de ovos e de galhas por sistema radicular. Para a quantificação do número de ovos por sistema radicular, as raízes foram cortadas em pedaços de aproximadamente 2 cm de comprimento para que os ovos fossem extraídos de acordo com a técnica de Hussey e Barker, modificada por Boneti e Ferraz (1981). Em microscópio de objetiva invertida realizou-se a contagem dos ovos de *M. javanica* por sistema radicular. O número de juvenis de segundo estágio por 100 cm³ de solo foi avaliado em câmara de Peters após extração de juvenis por meio da técnica de Jenkins (1964). Os tratamentos culturais foram aqueles recomendados para a cultura. Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo programa Sisvar (FERREIRA, 2000) e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott (1974) (P<0,05). O fator de reprodução (FR) foi obtido por meio da fórmula $FR = Pf/Pi$, onde Pf e o número de ovos aos 90 dias e Pi o número de ovos utilizado na infestação do solo.

Apoio: CNPq, PIBIC, CAPES, FAPEMIG e BIPDT.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

Resultados e discussão

Em relação ao número de galhas, com exceção dos isolados EB-136 e EB-187 todos os demais reduziram tal variável. A máxima redução, 71%, foi proporcionada por EB-55 *Bacillus subtilis* e a menor redução, 25%, promovida por EB-196 *Enterobacter* sp. Para o número massas de ovos todos os isolados utilizados no trabalho promoveram redução significativa em relação à testemunha, sendo que a máxima redução, 68%, foi proporcionada por EB-55 *B. subtilis*. Para o número de massas de ovos e fator de reprodução houve redução com atenuação máxima de 95% apresentada também pelo isolado EB-55 *B. subtilis*. (Tabela 1). O número de J2 apresentou reduções de 70% comparado a testemunha. Destaca-se o isolado EB-169 *Bacillus pumilus*. Em relação ao teor de matéria seca, houve um incremento de 62,25% comparado com a testemunha, promovido pelo isolado EB-196 *Enterobacter* sp. A caracterização dos isolados quanto ao gênero e espécie podem ser observados na (Figura 1). Estes resultados comprovam o potencial das bactérias endofíticas para serem utilizadas como bioinoculantes. Uma das vantagens de utilizar tal método, é comprovado na eficiência das bactérias endofíticas em estabelecer uma relação de colonização dos tecidos internos das plantas e desenvolver mecanismos de antagonismo à fitopatógenos, produzindo enzimas líticas. (TIPRE; PINDI; SHARMA, 2015), uma vez que essa característica é essencial para o sucesso dos tratamentos de doenças que afetam partes subterrâneas das plantas. (ARAVIND *et al.* 2008). Resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho têm sido observados por Naves *et al.* (2002) que estudaram a aplicação de bactérias endofíticas isoladas do sistema radicular de plantas de tomate, crotalaria, trigo, milho e braquiária para o controle de *M. javanica*. Os autores verificaram que todos os isolados apresentaram efeito antagônico e diminuíram a formação de galhas e reprodução dos *M. javanica*.

Conclusões

O isolado EB-55 *B. subtilis* demonstrou um grande potencial no controle para número de galhas, massas de ovos, fator de reprodução de *M. javanica*.

O isolado EB-169 *Bacillus pumilus* reduziu significativamente a população de juvenis de segundo estágio no solo (J2).

O isolado EB-196 *Enterobacter* sp., aumentou o teor de matéria seca das plantas.

Os isolados EB-55, EB-169 e EB-196 tem grande potencial para serem usados como bioinoculantes.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela concessão da bolsa de iniciação científica (PIBIC), à CAPES pela bolsa de mestrado e a FAPEMIG pelas bolsas de incentivo à pesquisa e ao desenvolvimento tecnológico (BIPDT).

Referências Bibliográficas

ARAVIND, R.; KUMAR, A.; EAPEN, S.J. & RAMANA, K.V. Endophytic bacterial flora in root and stem tissues of black pepper (*Piper nigrum* L.) genotype: isolation, identification and evaluation against *Phytophthora capsici*. **Letters in Applied Microbiology**, 48: 58-64.2008.

BONETI, J. I. S., S. FERRAZ. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, n. 3, p. 553. 1981.

FERRAZ, S.; DIAS, C. R.; FREITAS, L. G. Controle de nematoides com práticas culturais. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). Manejo Integrado? Fitossanidade: Cultivo protegido, pivô central e plantio direto. Viçosa: Editora UFV, 2001. 52 p.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria, v. 45 São Carlos. Anais... São Carlos: UFSCAR, p. 255-258. 2000.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v. 48, p. 692, 1964.

NAVES, R.L., V.P. CAMPOS & R.M. SOUZA. 2002. Antagonismo de bactérias endofíticas a formação de galhas e a reprodução de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, n: 26, vol.(1), p. 13-19.

OOSTENDORP, M. & SIKORA, R.A. Seed treatment with antagonistic rhizobacteria for the suppression of *Heterodera schachtii* early root infection of sugar beet. **Revue de Nématologie**, 12:77-83. 1989.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

SCOTT, A. J., and M. KNOTT. "A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance". *Biometrics*.p. 507-512. 1974.

TIPRE, S.; PINDI, P. K.; SHARMA, S. Biotechnological potential of a Halobacterium of family Bacillaceae. *Indian Journal of Biotechnology*, v. 14, n. January, p. 65-71, 2015.

Tabela 1. Variáveis nematológicas e vegetativas de bananeiras, inoculadas com bactérias endofíticas, cultivadas em solo infestado com *Meloidogyne javanica*.

Isolados	Número de Galhas	Isolados	Massas ovos	Isolados	Número de Ovos	Isolados	FR	Isolados	Número de J2	Isolados	MSPA
EB-55	115,50 a	EB-55	51,88 a	EB-55	5041,38 a	EB-55	2,52 a	EB-169	80,25 a	EB-196	48,40 a
EB-144	177,88 b	EB-88	52,38 a	EB-56	7870,75 b	EB-56	3,94 b	EB-58	82,13 a	EB-136	40,65 b
EB-194	183,88 b	EB-68	56,38 a	EB-57	9877,50 c	EB-57	4,94 c	EB-126	82,13 a	EB-147	39,51 c
EB-169	196,88 b	EB-144	58,63 a	EB-126	15837,38 d	EB-126	7,92 d	EB-55	84,25 a	EB-87	38,59 c
EB-57	202,50 b	EB-194	61,50 b	EB-60	18998,38 e	EB-60	9,50 e	EB-68	110,00 b	EB-55	32,75 d
EB-60	224,38 c	EB-60	63,50 b	EB-58	23367,38 f	EB-58	11,69 f	EB-144	113,50 b	EB-60	32,29 d
EB-68	237,13 c	EB-57	65,88 b	EB-88	23864,63 f	EB-88	11,93 f	EB-57	132,88 c	EB-68	31,21 e
EB-88	237,13 c	EB-126	65,88 b	EB-144	24383,75 f	EB-144	12,19 f	EB-71	143,00 c	EB-126	30,96 e
EB-71	239,38 c	EB-133	66,38 b	EB-64	27429,63 g	EB-64	13,72 g	EB-88	144,25 c	EB-194	28,88 f
EB-126	241,25 c	EB-63	67,25 b	EB-169	30138,88 h	EB-169	15,07 h	EB-133	147,88 c	EB-64	28,79 f
EB-63	248,25 c	EB-71	68,75 b	EB-194	30984,63 i	EB-194	15,50 i	EB-127	149,75 c	EB-71	28,74 f
EB-147	250,38 c	EB-169	70,50 b	EB-71	31516,00 i	EB-71	15,76 i	EB-56	152,63 c	EB-58	28,45 f
EB-56	251,13 c	EB-147	74,63 b	EB-127	32430,75 j	EB-127	16,22 j	EB-194	160,25 d	EB-127	27,86 g
EB-127	273,25 d	EB-56	77,13 c	EB-63	33809,50 k	EB-63	16,90 k	EB-196	160,63 d	EB-57	27,73 g
EB-133	288,00 d	EB-64	87,13 d	EB-68	36356,00 l	EB-68	18,18 l	EB-60	166,63 d	EB-144	27,18 g
EB-64	296,13 d	EB-127	91,13 d	EB-196	37674,63 m	EB-196	18,84 m	EB-64	182,75 e	EB-56	26,99 g
EB-58	301,88 d	EB-196	92,25 d	EB-133	38662,25 n	EB-133	19,33 n	EB-63	183,63 e	EB-63	26,80 g
EB-196	304,88 d	EB-58	97,25 d	EB-147	39057,50 n	EB-147	19,53 n	EB-147	191,88 e	EB-169	26,63 g
EB-136	401,13 e	EB-136	148,13 e	EB-87	91769,25 o	EB-87	45,88 o	EB-136	243,38 f	EB-88	24,83 h
EB-87	403,63 e	EB-87	151,50 e	EB-136	92920,00 p	EB-136	46,46 p	EB-87	272,38 g	EB-133	23,86 h
Test.	404,88 e	Test.	162,75 f	Test.	93430,88 p	Test.	46,72 p	Test.	269,38 g	Test.	29,83 e
CV (%)	9,33	CV (%)	14,71	CV (%)	2,67	CV (%)	2,67	CV (%)	12,39	CV (%)	4,6



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

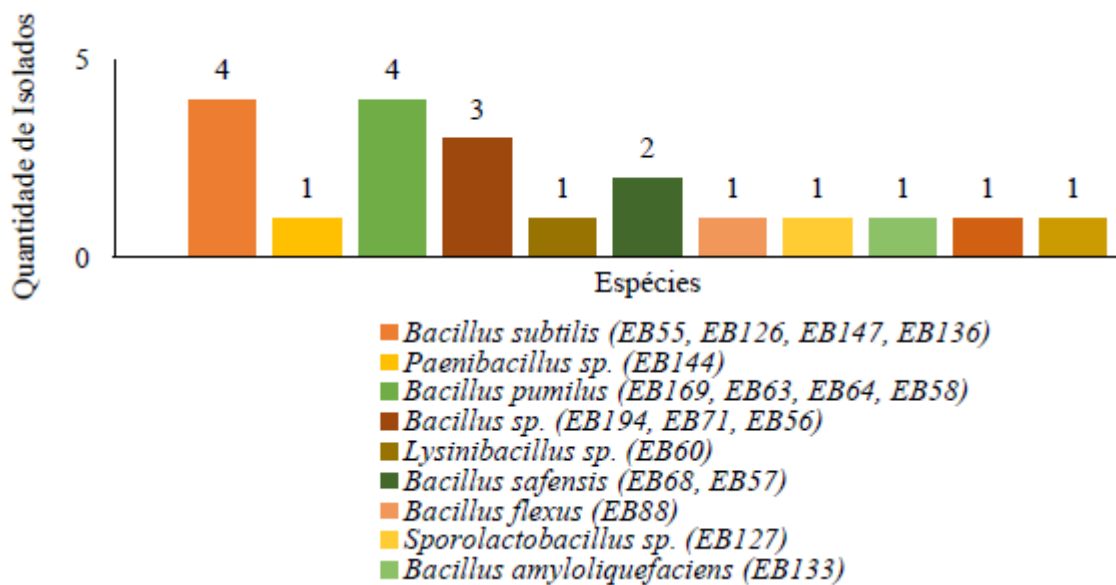


Figura1. Caracterização de isolados de bactérias endofíticas em gênero e espécie.